

## OPACIDAD MUSCULAR EN PALAEMONIDOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (ARGENTINA).\*\*

Miguel Schuldt\*

(División Invertebrados. Museo de La Plata. Paseo del Bosque s/n. (1900) La Plata)

### RESUMEN

En el transcurso de muestreos periódicos en el área de Boca Cerrada (Selva marginal de Punta Lara, Prov. Bs. As.) fueron observados 4 camarones adultos (3 *Palaemonetes argentinus* y 1 *Macrobrachium borellii*) que macroscópicamente manifestaban una opacidad blancuzca difusa, correspondiente con una condición patológica conocida como "white or milky prawn" o "cotton shrimp". Desde el punto de vista microanatómico fue posible establecer que:

- 1) Los casos de "cotton shrimp" analizados obedecen a dos miopatologías que difieren por su origen: a) la necrosis idiopática (de causa desconocida) muscular o IMN (afecta a 2 machos de *P. argentinus*), y b) la patología infecciosa debida a microsporidios Thelohaniidae (hembra de *P. argentinus*) y *Microsporidium* sp. (hembra de *M. borellii*). Las prevalencias de ambas afecciones son inferiores al 1%.
- 2) La IMN observada es atípica considerando la escasa actividad reaccional del músculo (v.g. infiltración granulocítica y desdiferenciación mioblástica), lo cual pudiera deberse a lo reciente de la instalación de la patología detectada.
- 3) La miopatología infecciosa cursa de manera similar en ambos camarones, afectando la mayor parte de la musculatura estriada del cuerpo de los crustáceos. Los microsporidios no invaden a la musculatura vinculada al aparato digestivo, ni al músculo cardíaco. Asimismo el resto de los tejidos y/u órganos de los camarones se hallan libres de esporas.
- 4) Las esporas de los microsporidios reemplazan progresivamente al sarcoplasma en su casi totalidad. Se estima que el desarrollo intracelular de la parasitosis hace que los parásitos sean sustraídos transitoriamente a mecanismos de respuesta de tipo inmunocelular, apreciándose éstos recién en las etapas finales de la infección. Los procesos reactivos tisulares son de tipo inflamatorio (con fagocitosis granulocítica, formaciones nodulares y capsulogénesis).

### SUMMARY

Muscular opacity in palaemonid shrimp from Buenos Aires province (Argentina).

Periodical sampling in the Boca Cerrada area (Punta Lara Marginal forest) revealed 4 adult pathological shrimps (3 *Palaemonetes argentinus* and 1 *Macrobrachium borellii*) which showed the condition known as "white or milky prawn" or "cotton shrimp". Microanatomical analysis yielded the following conclusions: 1) "Cotton shrimp" cases analyzed are due to two myopatho-

\* Investigador del CONICET (ILPLA).

\*\* Contribución científica N°507. del Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet" (ILPLA) (UNLP-CONICET)

logies of different origin: a) idiopathic muscle necrosis or IMN (affecting 2 males of *P. argentinus*) and b) infectious pathology caused by thelohanid microsporidia (*P. argentinus* female) and *Microsporidium* sp. (*M. borellii* female). In each case detected prevalence is well below 1%. 2) Considering the low level response of the muscular tissue (e.g. granulocytic infiltration and myoblast activation), observed IMN is atypical. This could be due to the recent nature (initial stage?) of the pathological development. 3) In both shrimp infectious myopathological process is similar, affecting most of striated muscle mass. Microsporidia fail to invade muscles related to digestive organs, or to heart muscle. Likewise, the remaining organs and tissues of shrimp are free from spores. 4) In infected muscles the sarcoplasm is progressively replaced by the spores, almost entirely. It is assumed that the intracellular location and development of the parasites delays cellular immune responses, which are apparent towards final stages of infection (inflammatory reaction comprising granulocytic fagocytosis, nodules and capsulogenesis).

## INTRODUCCION

En el transcurso de muestreos periódicos de palaemónidos en el área de Boca Cerrada (Selva Marginal de Punta Lara), realizados entre 1984 y 1988, fueron observados 4 camarones adultos (3 *Palaemonetes argentinus* y 1 *Macrobrachium borellii*) que macroscópicamente manifestaban una opacidad blancuzca difusa y de extensión variable en el interior del soma de los distintos ejemplares (desde unos pocos focos en el céfalo-pereión o el pleon, hasta la totalidad de los tagmas). El estado de estos camarones se corresponde con una condición patológica conocida como "white or milky prawn" o "cotton shrimp"<sup>1,2</sup>, correlacionable con miopatologías, ya sea debidas a estresantes ambientales (caso de la necrosis idiopática del músculo o IMN), o bien a agentes infecciosos (bacterias, hongos y microsporidios).<sup>1</sup>

El análisis microanatómico de los ejemplares permitió establecer que la miopatología de ambos machos de *P. argentinus* no era atribuible a microorganismos, debiendo catalogarse como casos subtípicos de IMN. La afección de los camarones femeninos se debe en *P. argentinus* y en *M. borellii* a la infección de la musculatura por microsporidios.

La IMN puede derivar en mortalidades masivas de crustáceos de significación económica<sup>1</sup>. Entre los microsporidios se hallan los agentes infecciosos más patógenos para crustáceos, pudiendo adquirir caracter epizootico, con el consiguiente perjuicio para la carcinocultura<sup>3,4,5</sup>. Consecuentemente, es conveniente efectuar un análisis de ambas patologías en *P. argentinus* y *M. borellii* con el objeto de determinar cuáles son los tejidos y/u órganos afectados y la existencia o no de morbilidad. El presente trabajo pretende esclarecer estos aspectos. Cabe señalar que el caso de *M. borellii* reviste particular interés porque su cultivo mejora el rendimiento de la piscicultura.<sup>6</sup>

## MATERIAL Y METODOS

Los 4 camarones que motivan el presente trabajo fueron capturados en el Canal Colector de los arroyos Carnaval y Martín (Selva Marginal de Punta Lara, Provincia Buenos Aires) y seleccionados sobre la base de la presencia de una opacidad muscular conspicua (tabla 1).

Los animales se fijaron con Carnoy (6:3:1) (12 horas), deshidrataron con etanol 96° (2 baños de 1 hora cada uno) y butanol N (3 baños, cada uno de 24 horas), y se incluyeron en Paraplast. Las secciones (de 5-8 µm de espesor) fueron sometidas a las siguientes técnicas de coloración: Hematoxilina (Meyer, Harris) y Eosina, PAS (con Parafucina), Tricómico de Gomori, Goodpasture y Azul de Kung.

Fecha de muestreo	Especie	Sexo	Talla <sup>1</sup>	Observaciones	Diagnóstico
25.06.85	<i>P. argentinus</i>	♂♂	8 mm	Opacidad en la región posterior del céfalotorax.	IMN
25.06.85	<i>P. argentinus</i>	♂♂	9 mm	Opacidad en el 1er. 2do. y 3er. segmento del pleon.	IMN
22.12.86	<i>P. argentinus</i>	♂♂	12 mm	Opacidad extendida por practicamente todo el cefalo-pereion y el pleon.	Microsporidiosis
02.02.88	<i>M. borellii</i>	♂♂	21 mm		

Tabla 1: *Palaemonetes argentinus* y *Macrobrachium borellii*. Datos merísticos, sexo, observaciones y diagnóstico de los camarones (1: expresada en mm de longitud del céfalotorax)

## RESULTADOS

Macroscópicamente los 4 camarones estudiados (tabla 1) se encuadran en casos típicos de "cotton shrimp"<sup>1,2</sup>. Desde el punto de vista microanatómico y de acuerdo con el origen de la miopatología, es necesario considerar separadamente el caso de los machos de *P. argentinus*, afectados por una necrosis de causa desconocida (idiopática), de las afecciones de las hembras de *P. argentinus* y *M. borellii*, las cuales resultan de la infección por microsporidios.

### a) Miopatología idiopática de *P. argentinus*

La IMN observada en *P. argentinus* consiste en una miopatología involutiva caracterizada por pérdida de la estriación transversal, vacuolización autolítica, floculación y retracción del sarcoplasma, el cual queda reducido a un retículo condensado en torno del tejido conectivo endomisial. Paralelamente, se observan síntomas de necrosis en los núcleos de las fibras, con predominio de picnosis, siendo la cariorrexis y la cromatolisis menos frecuentes. Cabe consignar la ausencia de fenómenos tisulares reactivos conspicuos, mas allá de algún foco periférico de atracción hemocitaria, faltando asimismo los núcleos de desdiferenciación mioblástica y/o activación de células satélites<sup>1,7</sup> (Fig. 1ab).

### b) Miopatología infecciosa de *P. argentinus* y *M. borellii*

La miopatología infecciosa de *p. argentinus* y *M. borellii* se relaciona con 2 géneros distintos de microsporidios, pero cursa de manera similar en ambos camarones. *P. argentinus* es invadido por *Thelohaniidae* (*Thelohania*?) (diámetro grupo octosporal 4-6µm; talla espora: 2µm), mientras que *M. borellii* se halla infectado por microsporidios equiparables al género *Nosema* o *Ameson* (talla esporas: 3-4 µm), y que acorde con las recomendaciones de Sprague<sup>8</sup> es más prudente incorporar al grupo colectivo *Microsporidium*.sp. (figs.2,3,4).

Las prevalencias son extremadamente bajas (inferiores al 1%). Ambos microsporidios afectan practicamente a la totalidad de la musculatura estriada del céfalo-torax, pleon, telson y apéndices de los camarones, no así a la musculatura del tubo digestivo, ni a las fibras cardíacas. Asimismo, los microsporidios no se hallaron en los siguientes tejidos y/u órganos: glándulas antenales,

“hepatopáncreas”, ovarios, ganglios y nervios, branquias, hemolinfa y nódulos hemolinfopoyéticos, y los conectivos laxos y adipoides.

Los microsporidios invaden al sarcoplasma hasta su casi total reemplazo por esporas (figs. 2ab, 3, 4ab). El conjunto membranoso sarcolema-basal endomisial oficia de barrera y no suele ser desbordado por los microsporidios, sino recién en la fase final de la infección que cursa sin hipertrofia miofibrilar, observándose en los músculos afectados focos inflamatorios de alta densidad celular, integrados por mioblastos-células satélites y hemocitos (figs. 2bc, 3, 4ab). No obstante, algunos focos esbozan procesos reactivos de tipo capsulogénico, predominando las formaciones nodulares (figs. 2bc, 4b). Ocasionalmente el músculo adyacente a la infección presenta cuadros equiparables a la IMN (figs. 3, 4ab).

## DISCUSION

El tejido muscular, al igual que otros tejidos, constituye un contingente definido, que posee una potencialidad reactiva asimismo definida y más o menos limitada frente a determinados estresantes o noxas. El espectro reactivo del músculo responde a la finalidad de la reparación del tejido injuriado. La restauración puede desarrollarse de manera semejante aún cuando las causas de la lesión sean distintas (autotomía, aislamiento de parásitos diversos, o de naturaleza desconocida), observándose convergencias funcionales (estrategias concurrentes) en los procesos tisulares que conducen a ese propósito restaurador<sup>1,9,10</sup>. Consecuentemente, se impone el tratamiento conjunto de las miopatologías (idiopática e infecciosa) que motivan esta contribución.

La necrosis idiopática que se observa en *P. argentinus* no es típica si se la compara con la IMN de otros palaemónidos<sup>1</sup> ya que en *P. argentinus* no se constatan fenómenos tisulares reaccionales salvo ocasionales focos periféricos de infiltración hemocitaria, hallándose asimismo ausentes los núcleos de tipo mioblástico-satelital que mencionan Nash et al.<sup>1</sup> como sintomáticos para la IMN y que caracterizan a la regeneración muscular discontinua<sup>7</sup>. La escasa extensión que posee la miopatología en el soma de los camarones y la ausencia de una manifestación reaccional de tipo inflamatorio (figs. 1a, 1b) permite suponer que se trata de un proceso degenerativo incipiente, ya que, de lo contrario, y en función del tiempo, la sola lesión muscular, independientemente de las causas de la misma, desencadena una atracción hemocitaria con granulocitos que exteriorizan actividad fagocítica frente a las miofibras injuriadas<sup>9,11</sup>.

La miopatología infecciosa de *P. argentinus* y *M. borellii*, en cambio, y a juzgar por lo difundido de la esporulación de los parásitos, no es una enfermedad de curso reciente. En ambos camarones los procesos reactivos descritos (sección 3) constituyen manifestaciones tardías, considerando que la instalación y propagación de la infección es de larga data. Esta demorada exteriorización inflamatoria posiblemente no se deba a una falta de reconocimiento “no propio” del sistema inmunológico de los camarones, siendo más probable que la localización intracelular de los microsporidios los sustraiga transitoriamente a la inmunidad celular de los hospedadores, ya que los parásitos pertenecen a taxa presuntivamente reconocibles como ajenos al organismo que los aloja<sup>10,12</sup>. En consecuencia, es posible que la infiltración hemocitaria sea fruto de una respuesta tisular en la que se combinan mecanismos tanto inespecíficos (resultantes de lesiones fibrilares, particularmente del sarcolema) como más o menos específicos (determinados por la presencia de los microsporidios). Cabe señalar que la fagocitosis y capsulogénesis en torno de remanentes de la necrosis miofibrilar que se observa durante la IMN<sup>1</sup> es equiparable a los procesos que se aprecian en focos inflamatorios derivados de la infección y probable liberación de esporas (figs. 2bc, 4ab).

La encapsulación por hemocitos es una estrategia para el aislamiento tisular de un cuerpo extraño o de un parásito que posee dimensiones de metazoo (cercarias y metaercarias de trematodos digéneos, nematodos, etc.; v.g. de 200 - 1000  $\mu\text{m}$ )<sup>10,13,14</sup>. La talla de los microsporidios

hace esperable, *prima facie*, el desarrollo de una estrategia de confinación de tipo fagocitario (granulocítico, individual). No obstante, sería erróneo considerar que el predominio de formaciones nodulares (y de alguna capsulogénesis) como las observadas (figs. 2ab, 4b) implique la ausencia de un reconocimiento no propio de los camarones enfrentados a las microesporas, debiendo considerarse a la adopción de una estrategia tisular de orden superior (formaciones nodulares y capsulares) como una adecuación funcional (reparación, aislamiento) a un proceso infeccioso sistémico. La magnitud de la infección torna improbable una recuperación de los camarones afectados (figs. 2ab, 3).

Son conocidos los efectos de los microsporidios sobre la *sexratio* de hospedadores invertebrados acuáticos en general<sup>15</sup> y crustáceos anfípodos en particular<sup>16</sup>, siendo en estos últimos responsables de su feminización. El que la miopatología infecciosa de *P. argentinus* y *M. borellii* haya sido detectada en 2 ejemplares de sexo femenino no posibilita asumir una posición al respecto, dada la ingerencia del azar para un *n* tan bajo.

### CONCLUSIONES

- 1) Los casos de "cotton shrimp" analizados obedecen a dos miopatologías que difieren por su origen: a) la necrosis idiopática (de causa desconocida) muscular o IMN (afecta a 2 machos de *P. argentinus*), y b) la patología infecciosa debida a microsporidios Thelohaniidae (hembra de *P. argentinus*) y *Microsporidium* sp. (hembra de *M. borellii*). Las prevalencias de ambas afecciones son inferiores al 1%.
- 2) La IMN observada es atípica considerando la escasa actividad reaccional del músculo (v.g. infiltración granulocítica y desdiferenciación mioblástica), lo cual pudiera deberse a lo reciente de la instalación de la patología detectada.
- 3) La miopatología infecciosa cursa de manera similar en ambos camarones, afectando la mayor parte de la musculatura estriada del cuerpo de los crustáceos. Los microsporidios no invaden a la musculatura vinculada al aparato digestivo, ni al músculo cardíaco. Asimismo el resto de los tejidos y/u órganos de los camarones se hallan libres de esporas.
- 4) Las esporas de los microsporidios reemplazan progresivamente al sarcoplasma en su casi totalidad. Se estima que el desarrollo intracelular de la parasitosis hace que los parásitos sean sustraídos transitoriamente a mecanismos de respuesta de tipo inmunocelular, apreciándose estos recién en las etapas finales de la infección. Los procesos reactivos tisulares son de tipo inflamatorio (con fagocitosis granulocítica, formaciones nodulares y capsulogénesis).

### AGRADECIMIENTOS

La identificación de los microsporidios fue posible gracias a la colaboración del Dr. J. J. García (Centro de Estudios de Parásitos y Vectores; La Plata), a quien agradezco además el que me permitiera la utilización del fotomicroscopio para obtener las micrografías de este trabajo. Agradecimiento que hago extensivo al Tec. Guillermo Sierra (Observatorio Astronómico: La Plata) por su colaboración en el procesamiento fotográfico.

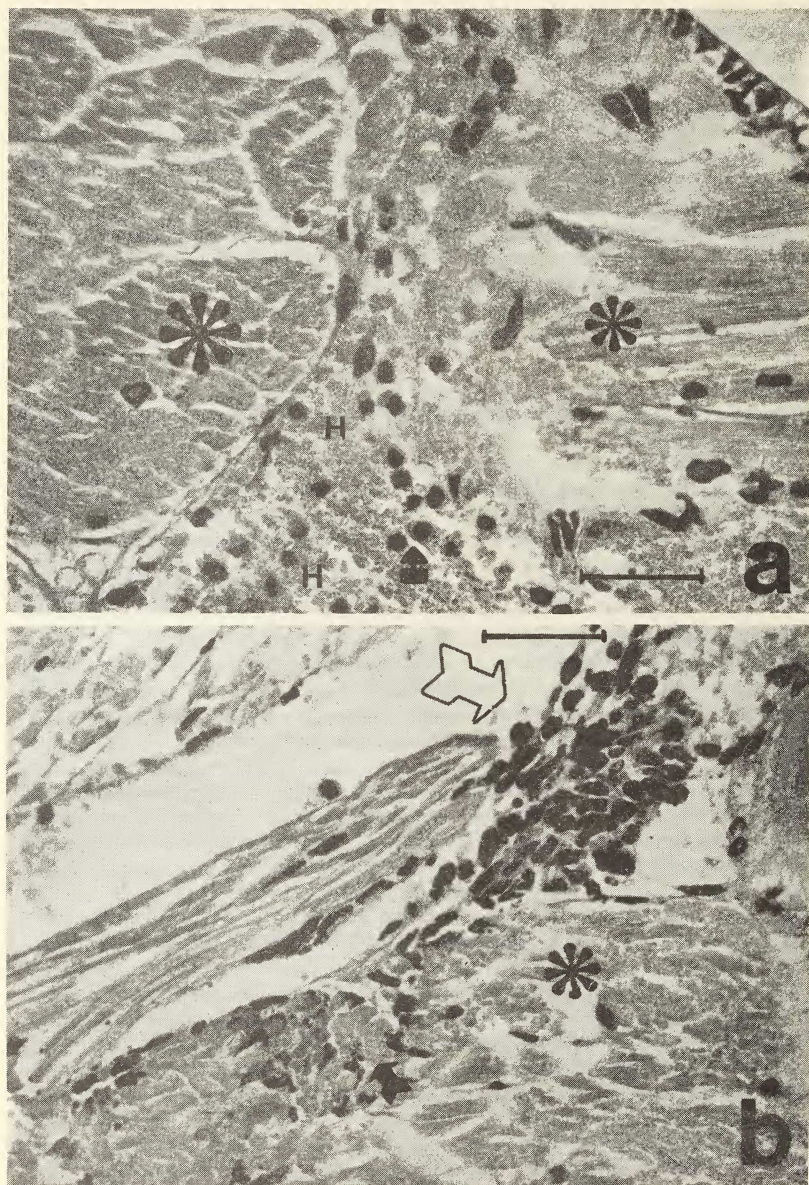


Figura 1. *Palaemonetes argentinus*. Necrosis muscular idiopática.

a) Panorámica; b) Detalle de a.

(C: cutícula; MS: musculatura sana; Estrellas: área de necrosis; Flecha: núcleos en picnosis.  
Escala: 50  $\mu$  m).

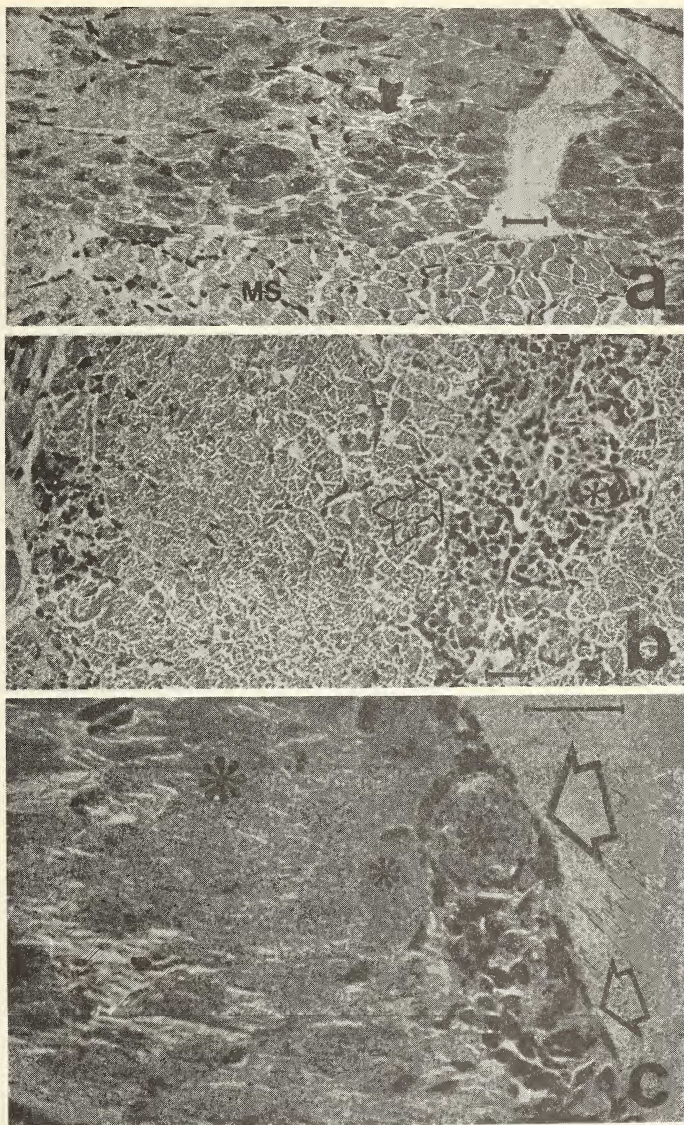


Figura 2: *Macrobrachium borellii*. Miopatología infecciosa. (Escala: 50  $\mu$ m).  
 a) Tejido muscular no parasitado (MS) e infectado con *Microsporidium* sp. (áreas oscuras, flechas).  
 b) Musculatura infectada. Áreas de infiltración hemocitaria (Granulocítica con predominio de formaciones nodulares (flecha) y capsulogénesis (asterisco)).  
 c) reacción tisular en la musculatura infectada (asterisco): capsulogénesis (flecha mayor) e infiltrado granulocítico con mioblastos (flecha menor).

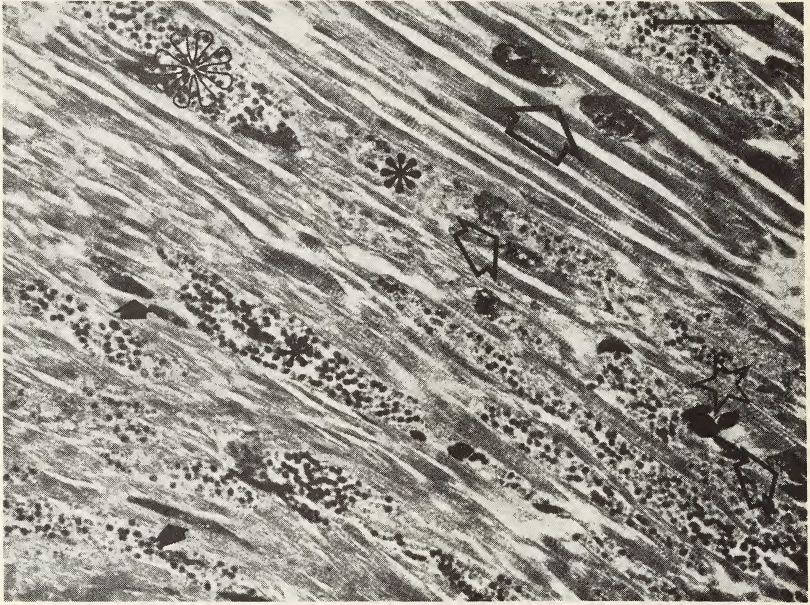


Figura 3. *Macrobrachium borellii*. Miopatología infecciosa: mionúcleos de fibras no infectadas (flecha mayor), desdiferenciación mioblástica ? (flecha mediana) y núcleos picnóticos de miofibras (flecha menor) (Estrella: picnosis granulocítica. Asterisco: microsporidiosis; Escala: 50 $\mu$ m).



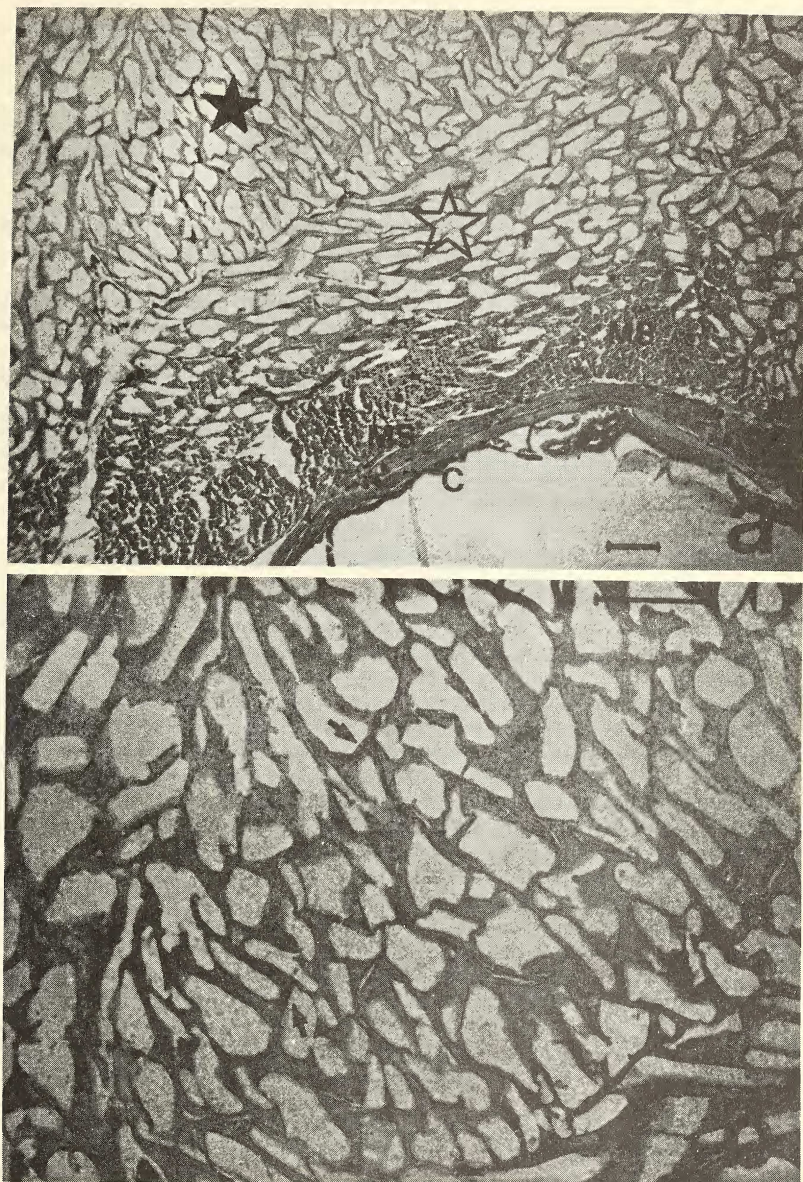


Figura 4. *Palaemonetes argentinus*. Musculatura con Theolohanidae (Escala: 50µm).  
a) Migración granulocítica (Flecha) en la hemolinfa (H) que bordea el musculo infectado (asterisco).  
b) Infiltración hemocítica (flechas).

## REFERENCIAS

1. G. NASH, S. CHINABUT y C. LIMSUWAN, J. Fish Dis. 10 (1987) 109.
2. J. K. JOHNSON, Texas Agriculture Extension Service (1978) 4.
3. R. M. OVERSTREET, Metazoan Symbionts of Crustaceans en D. E. BLISS and A. J. PROVENZANO Jr. (EDS.) The Biology of Crustacea: Pathobiology (Vol. 6), Academic Press New York, 1983, p. 156-251.
4. J. F. KELLY, J. Invertebr. Pathol. 33 (1979) 331.
5. J. A. COUCH, Diseases Caused by Protozoa en D. E. BLISS and A. J. PROVENZANO Jr. (Eds.) The Biology of Crustacea: Pathobiology (Vol. 6), Academic Press New York, 1983, p. 79-113.
6. L. GALLI, R. MAZZONI, F. AMESTOY Y M. SPINETTI, Estudio preliminar de la producción de *Macrobrachium borellii* en estanques de tierra. IV Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo, 1987.
7. R. V. KRSTIC, Die Gewebe des Menschen und der Säugetiere, Springer Verlag Berlin, 1978, p. 400.
8. V. SPRAGUE, Classification and Phylogeny of the Microsporidia en L. A. BULLA and T.C. CHENG (Eds.) Comparative Pathobiology, Systematics of the Microsporidia, Plenum Press, New York, 1977, p. 510.
9. F. HOARAU, Bull. Soc. Zool. Fr. 104 (1979) 167.
10. S. R. MARTORELLI y M. SCHULDT, Rev. Biol. Tropical 38 (1990) 295.
11. M. SCHULDT, A. RODRIGUEZ-CAPITULO y E. C. MUÑOA, Monografías CIC Bs. As. 11 (1981) 1.
12. A. M. LACKIE, Transplantation: The Limits of Recognition en A. P. GUPTA (Ed.) Hemocytic and Humoral Immunity in Arthropods, J. Wiley, New York, 1986, p. 191-226.
13. O. PFLUGFELDER, Wirtstierreaktionen auf Zooparasiten, Fischer Verlag, Jena, 1977, p. 378.
14. G. A. AMIRANTE, Cellular Immune Responses in Crustaceans en A. P. GUPTA (Ed.) Hemocytic and Humoral Immunity in Arthropods, J. Wiley, New York, 1986, p. 61-76.
15. J. WEISER, Microsporidia in Invertebrates: Host-Parasite Relations at the Organismal Level en L. A. BULLA AND T. C. CHENG (EDS.) Comparative Pathobiology, Biology of the Microsporidia, Plenum Press, New York, 1976, p. 164-203.
16. H. P. BULNHEIM, Mar. Fish. Rev. 37 (1975) 39.